动 物 学 研 究 2004, Feb. 25 (1): 57~62
Zoological Research
CN 53-1040/Q ISSN 0254-5853

毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系

竺俊全[1]，杨万喜[2]
(1. 宁波大学 生命科学与生物工程学院，浙江 宁波 315211，zjq999@mail.nbptt.zj.cn；
2. 浙江大学 生命科学学院，浙江 杭州 310012)

摘要：应用透射电镜技术，比较研究了毛蚶与青蚶精子的超微结构。毛蚶精子顶体为圆锥形，约为核长的1/2；精核无核前窝，具核后窝；中段横切面常见5个（偶见4个）线粒体环绕于中心粒周围；精子末段由轴丝及包绕轴丝的质膜组成，轴丝为典型的"9+2"结构。青蚶精子顶体轴向纵切面呈伞状，覆盖于细胞核前端，约为核长的1/3；精核具核前窝和核后窝；中段横切面常见有5个（偶见6个）线粒体环绕于中心粒周围；末段结构同毛蚶。顶体的形态、核前窝和核后窝的有无、中段线粒体的数量等是探索蚶科动物种间进化关系的线索。

关键词：蚶科；精子；超微结构；进化
中图分类号：S917；Q31 **文献标识码**：A **文章编号**：0254-5853(2004)01-0057-06

Spermatozoon Ultrastructure of *Scapharca subcrenata* and *Barbatia virescens* and Its Implications for Evolutionary Relationship in Arcidae

ZHU Jun-quan[1], YANG Wan-xi[2]
(1. *Faculty of Life Science and Biotechnology*, *Ningbo University*, *Ningbo* 315211, *China*;
2. *College of Life Sciences*, *Zhejiang University*, *Hangzhou* 310012, *China*)

Abstract: The spermatozoa ultrastructure of *Scapharca subcrenata* and *Barbatia virescens* was comparatively investigated by transmission electron microscope. The acrosome of *Scapharca subcrenata* spermatozoon is conical in shape, about half the length of the nucleus; there is no front nuclear pocket, but a posterior nuclear pocket exists; five (occasionally four) mitochondria are seen surrounding the distal centriole of the mid-piece; the end-piece of the sperm consists of the axoneme and its surrounding cytoplasm, and the axoneme has a typical "9+2" structure. The longitudinal section of the acrosome of *Barbatia virescens* is umbrella-like in shape, and the acrosome covers the front of nucleus, and is about 1/3 the length of the nucleus. The nucleus has both front and posterior nuclear pockets; five (occasionally six) mitochondria are seen surrounding the distal centriole in the cross sections; the structure of the end-piece of *Barbatia virescens* is the same as that of *Scapharca subcrenata*. In Arcidae, the morphology of acrosome, the presence of the front and posterior nuclear pockets, and the number of mitochondria in the mid-piece are the clues for understanding of the interspecifically evolutionary relationship.

Key words: Arcidae; Spermatozoa; Ultrastructure; Evolution

动物的精子结构是生殖生物学的重要研究内容之一。此外，由于物种之间精子的形态结构具有种的特异性；所以，精子的超微结构还可作为分类的依据（Dallai et al, 2003; Guidi et al, 2003; Yang & Zhou, 2000; Yang et al, 2000; Zhu & Yang, 2002)。系统地研究同一科和属动物精子结构的相异性与相同性，对探寻种间亲缘关系，探讨种间生殖隔离机制，以及选择种间杂交育种的物种都具有

收稿日期：2003-08-04；接受日期：2003-11-10
基金项目：宁波市青年科学基金资助项目（02J20102-18）

一定的参考价值。

蚶科动物是软体动物中的一个较大类群。传统的分类学研究表明，蚶科有 18 个属，约 62 种 (Xu，1997)。但传统的分类学研究发现同一属的物种往往有较大的形态学差异，这种现象给进化生物学研究带来一定的困难。近年来，对海洋贝类精子发生、精子结构及其在进化生物学上的应用研究较多，但未见蚶科动物精子结构的系统研究。作者对泥蚶（*Tegillarca granosa*）(Zhu et al，2002)、毛蚶（*Scapharca subcrenata*）、青蚶（*Barbatia virescens*）的精子及其发生进行的初步研究发现，三物种的精子在顶体、细胞核以及中段等结构上存在明显差异。在本文中我们比较研究了毛蚶和青蚶的精子结构，并指出了其在蚶科动物进化研究中的应用前景。

1 材料与方法

性成熟的毛蚶与青蚶采自浙江舟山海区潮间带或购自象山县丹城农贸市场。将样品贝置于冰块上，于采集当日带回实验室。挑选活力好、成熟度高的个体，注射 2.5%戊二醛（0.1 mol/L，pH 7.4 的磷酸缓冲液配制）入内脏团进行预固定，然后除去贝壳，解剖取得精巢，在 4 ℃下用上述 2.5%戊二醛固定 1~2 h，随后入 1%锇酸 4 ℃固定 1 h。乙醇梯度浓度脱水，Epon812 环氧树脂渗透并包埋，LKB-Ⅲ型超薄切片机切片，醋酸铀及柠檬酸铅双重染色，H-600A 透射电镜观察并拍照。

2 结果

毛蚶和青蚶的成熟精子均由头部和尾部两部分组成。头部含顶体(acrosome)和精核(nucleus)；尾部由中段(mid-piece)和末段(end piece)构成。

2.1 顶体

毛蚶精子顶体从轴向纵切面及横切面观可以判断为圆锥形，长度约为核长的 1/2，整个顶体由质膜包被，或称之为顶体泡（acrosomal vesicle)。顶体内部物质分布均匀、电子密度较高；顶体和核之间为顶体下腔（subacrosomal space)。顶体下腔的形态从近核端向远核端渐细，至顶端又稍膨大成球状；顶体下腔内物质呈颗粒状集中分布于腔中央区，顶体内膜与顶体下腔物质之间存在低电子密度的间隙（图 1~3)。不同的纵切面观，发现顶体呈高矮不同的帽状结构（图 4)。

青蚶精子顶体轴向纵切面观呈伞状，覆盖于细胞核前端，顶端较圆钝，长度为核长的 1/3 左右；顶体内含物均匀，电子密度低于细胞核；纵切面上可见有明显的横纹（striation)；顶体下腔似乳头状，下与“U”字形核前窝相接，内有电子密度较高的颗粒状物质分布（图 10)。

2.2 精核

毛蚶精子的核轴向纵切面观呈圆桶状，核质高度浓缩，电子密度高而均匀；核前端较平，无核前窝，核后端中央内凹，形成倒“V”字形核后窝，近端中心粒位于核后窝处（图 2，5)。

青蚶精子的核轴向纵切面观为圆桶状，核质致密，电子密度高；核前端中央有一“U”字形凹陷，为核前窝，内有较多的颗粒状物质分布；细胞核后端中央有一倒“V”字形凹陷，为核后窝，是近端中心粒嵌入细胞核的部位（图 10~11)。

2.3 中段

毛蚶精子中段轴向纵切面观可见 2 个球形线粒体位于同一层面上，中间是近端和远端中心粒，近端中心粒(proximal centriole)长轴方向与精子的纵轴方向垂直，远端中心粒(distal centriole)长轴方向与精子的纵轴方向一致，末端向后延伸出轴丝(图 4~5)；横切面显示 5 个(偶见 4 个)线粒体排列成梅花形，围绕于中心粒周围，外围有细胞膜包被，其间为细胞质，内含游离核糖体(图 6~7)。

青蚶精子中段轴向纵切面可见 2 个线粒体排列于同一层面上；横切面常见有 5 个线粒体环绕于中心粒的周围（图 12)，但也偶见有 6 个线粒体的现象（图 13)；近端和远端中心粒结构与毛蚶相似（图 10~11)。

2.4 末段

毛蚶精子的末段，即精子的尾部的后段，结构简单。从轴向纵切面及横切面观可见由轴丝及外包轴丝的质膜组成，轴丝为典型的“9+2”结构（图 8~9)。横切面可见有的质膜紧紧包绕轴丝，有的质膜未紧挨轴丝而在轴丝与质膜之间留有较多的细胞质（图 8)。

青蚶精子末段结构与毛蚶相似，由轴丝及包绕轴丝的质膜组成，轴丝为典型的“9+2”结构。

3 讨论

Hodgson & Bernard（1986）通过对贻贝科 3 种动物精子超微结构的详细比较，认为精子顶体等结



图1~9　毛蚶精子的超微结构

Figs.1－9　Spermatozoon ultrastructure of *Scapharca subcrenata*

A：轴丝（Axoneme）；AC：顶体（Acrosome）；DC：远端中心粒（Distal centriole）；F：鞭毛（Flagellum）；FP：核前窝（Front nuclear pocket）；M：线粒体（Mitochondria）；N：核（Nucleus）；PC：近端中心粒（Proximal centriole）；PM：质膜（Plasma

membrane); PP: 核后窝 (Posterior nuclear pocket); SS: 顶体下腔 (Subacrosomal space)。

1. 顶体纵切面，示顶体和顶体下腔 (Longitudinal section of sperm at acrosome, showing acrosome and subacrosomal space) ×44 000;
2. 精子纵切面，示顶体、核和线粒体 (Longitudinal section of sperm, showing acrosome, nucleus, and mitochondria) ×20 000;
3. 顶体横切面，示顶体下腔 (Cross section of sperm at acrosome, showing subacrosomal space) ×34 000;
4. 精子纵切面，示顶体、核、核后窝、线粒体，以及近、远端中心粒 (Longitudinal section of sperm, showing acrosome, nucleus, posterior nuclear pocket, mitochondria, and proximal and distal centriole) ×20 000;
5. 精子纵切面，示核后窝、线粒体，以及近、远端中心粒 (Longitudinal section of sperm, showing posterior nuclear pocket, mitochondria, and proximal and distal centriole) ×20 000;
6. 中段横切面，示5个线粒体 (Cross section of sperm at mid-piece, showing five mitochondria) ×20 000;
7. 中段横切面，示4个线粒体 (Cross section of sperm at mid-piece, showing four mitochondria) ×27 000;
8. 尾部鞭毛横切面，示"9+2"微管结构 (Cross section of flagellum at tail, showing the 9+2 arrangement of microtubules) ×44 000;
9. 尾部鞭毛纵切面，示中央微管 (Longitudinal section of flagellum at tail, showing central microtubule) ×44 000;

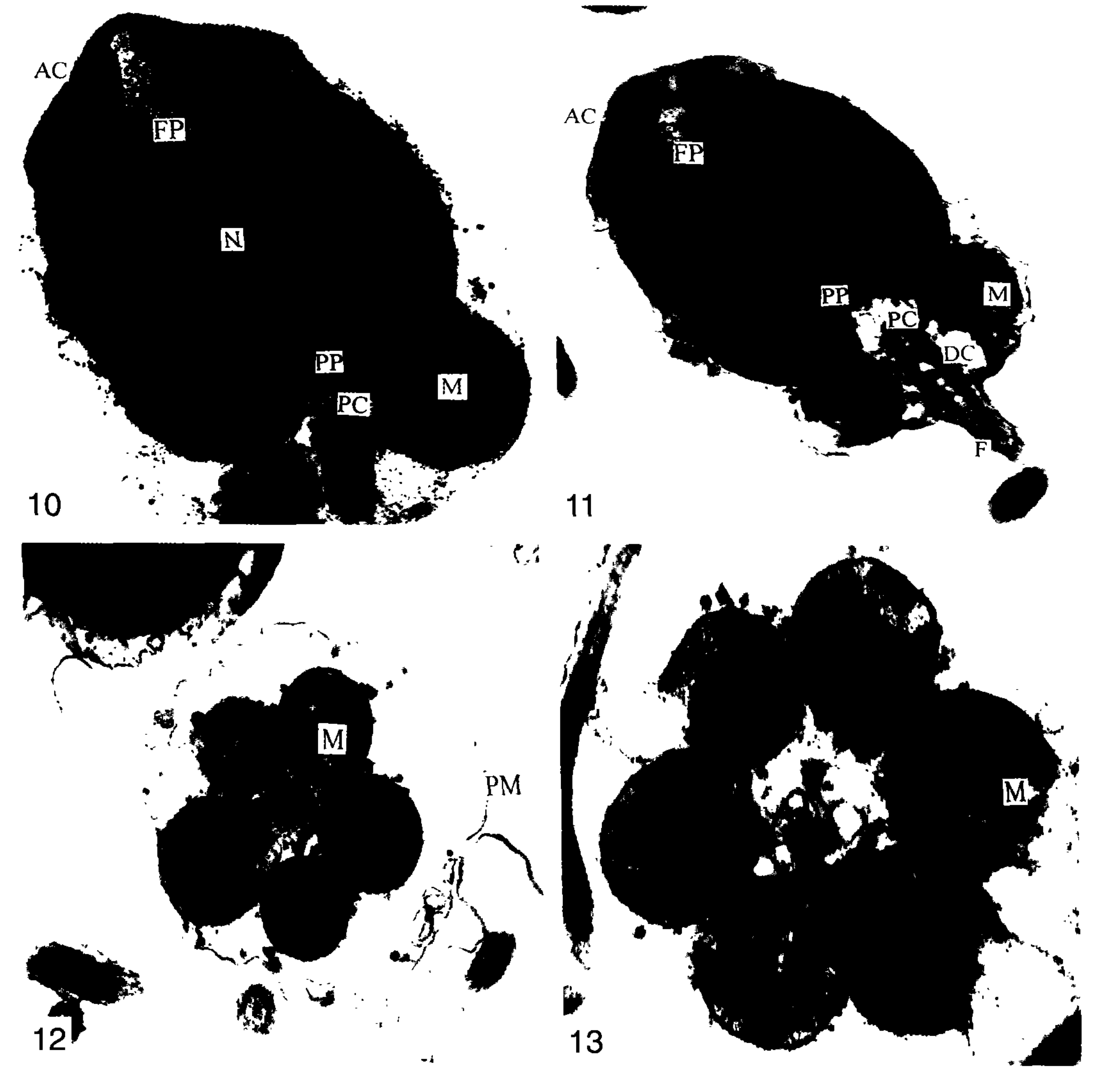


图 10~13 青蚶精子的超微结构

Figs.10－13 Spermatozoon ultrastructure of *Barbatia virescens*

缩写同图 1~9 (Abbs. are the same as Figs.1－9)。

10. 精子头部纵切面，示顶体、顶体下腔、核前窝、核后窝和近端中心粒 (Longitudinal section of sperm at head, showing acrosome, subacrosomal space, front nuclear pocket, posterior nuclear pocket and proximal centriole) ×30 000;
11. 精子纵切面，示核后窝、线粒体，以及近、远端中心粒 (Longitudinal section of sperm, showing posterior nuclear space, mitochondria, and proximal and distal centriole) ×25 000;
12. 精子中段横切面，示5个线粒体 (Cross section of sperm at mid-piece, showing five mitochondria) ×20 000;
13. 精子中段横切面，示6个线粒体 (Cross section of sperm at mid-piece, showing six mitochondria) ×30 000。

构可作为分类的依据；Deng & Tan（2001）比较分析了9种双壳类精子的超微结构，发现不同目之间顶体差异较大，同一科之间顶体差异较小；Ke et al（2003）对鲍科杂色鲍、盘鲍和皱纹盘鲍精子的超微结构进行了详细比较，发现三者的基本结构相似，但细微结构如顶体和核的大小比例及外形存在差异，其中盘鲍与皱纹盘鲍是同种不同亚种，亲缘关系很近，但在精子的超微结构上仍有差异。

我们在本文中通过对毛蚶和青蚶精子超微结构的比较研究，初步提出以下假设：蚶科动物精子的顶体、精核以及中段的结构变化能反映不同种属蚶科动物之间的亲缘关系。在蚶科动物漫长的生殖进化过程中，精子顶体的演变主要表现在顶体形态、顶体下腔及其内容物的变化上；精核特别是核前窝以及核后窝的有无及其形态是种间联系的重要进化特征；中段线粒体数目能显示属间的亲缘关系。

顶体是精子结构中最重要的部分之一，它是受精的结构基础。物种之间顶体结构千差万别，尽管同一属物种之间精子结构大体相似，但顶体的结构仍然存在明显的差异，这种现象在甲壳动物（Yang & Zhou，2000）、鱼类（Yang et al，2000）以及软体动物（Zhu & Yang，2002）中表现得异常明显。例如，贻贝（*Mytilus edulis*）（Longo & Domfeld，1967）精子顶体呈长圆锥形，栉孔扇贝（*Chlamys farreri*）精子顶体（Ren et al，1998）呈圆锥形，缢蛏（*Sinonovacula constricta*）（Liu et al，1990）则具有长的顶体柄及柄末端的顶体头，这三种双壳类软体动物的精子顶体形态结构差异很大；大珠母贝（*Pinctada maxima*）（Du，1996）精子顶体为圆锥体、顶体下腔中含有浓缩的板层小体，合浦珠母贝（*P. martensi*）（Shen & Zhang，1993）精子顶体为奶嘴形，顶体下腔中未发现板层小体，可见，珠母贝属这两个种的精子顶体结构也有明显差别。在蚶科，顶体结构不仅表现在其外部形态上，而且还表现在其弹性或者硬度上。青蚶精子顶体纵切面上可见有明显的横纹，显示其与泥蚶（Zhu et al，2002）和毛蚶精子顶体结构的明显区别。这种横纹在其他双壳贝类中也未见报道（*P. maxima*：Du，1996；*C. farreri*：Ren et al，1998；*P. martensi*：Shen & Zhang，1993）。另外，在毛蚶和青蚶精子的顶体中均未发现十足类甲壳动物精子中常见的顶体帽结构（Yang & Zhou，2000）。

细胞核能体现生殖进化特征的原因在于其特殊结构：核前窝和核后窝。蚶科动物泥蚶（Zhu et al，2002）和毛蚶的精子只有核后窝，无核前窝；而青蚶的精子具核前窝和核后窝。核前窝是将来顶体丝突起的重要结构基础，而核后窝是精子尾部赖以形成的结构基础。核前窝能容纳更多的顶体下腔物质，对精子成功地使卵子受精有一定的促进作用。我们认为，在同一类动物中，这两种结构的有无，能影射出种间的亲缘关系；显然，泥蚶和毛蚶之间的亲缘关系近于青蚶。

精子中段是游动型精子的能量来源，线粒体数量及其排列方式直接反应物种进化地位的高低。哺乳类精子中段长，线粒体数量多，其特殊的螺旋状排列适应了精子长时间运动的需要。在十足类甲壳动物，精子无中段，排卵过程中卵子“滚”过精荚或者纳精囊孔导致卵子受精（Yang & Zhou，2000）；在双壳类软体动物，精子虽有明显的中段，但与哺乳动物相比，中段长度明显变短，线粒体的数量明显变少，线粒体的形态呈卵圆形或球形（Shen & Zhang，1993；Du，1996；Ren et al，1998）。在蚶科动物，泥蚶（Zhu et al，2002）精子中段仅见5个线粒体，毛蚶精子中段线粒体常见5个、偶见4个，青蚶精子中段线粒体常见5个、偶见6个，可见，蚶科不同属精子中段线粒体数目有变异。中段线粒体数量的变化在其他双壳类软体动物中也存在（Erkan & Sousa，2002）。我们认为，中段线粒体是区别属与属之间的中段结构特征，因此，是研究蚶科动物生殖进化的重要依据之一。

参考文献：

Dallai R, Frati F, Lupetti P, Adis J. 2003. Sperm ultrastructure of *Mantophasma zephyra* (Insecta, Mantophasmatodea) [J]. *Zoomorphology*, **122**: 67-76.

Deng DG, Tan QK. 2001. Studies on ultrastructure of the sperm of freshwater mussel, *Cristaria plicata* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, **25** (5): 481-485. [邓道贵，谈奇坤. 2001. 褶纹冠蚌精子的超微结构研究. 水生生物学报，**25** (5): 481-485.]

Du XD. 1996. Studies on the ultrastructural changes in spermatogenesis of *Pinctada maxima* Jameson [J]. *Journal of Wuhan University* (*Natural Science*), **42** (2): 219-224. [杜晓东. 1996. 大珠母贝精子发生超微结构变化的研究. 武汉大学学报（自然科学版），**42** (2): 219-224.]

Erkan M, Sousa M. 2002. Fine structural study of the spermatogenic

cycle in *Pitar rudis* and *Chamelea gallina* (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) [J]. *Tissue & Cell*, **34** (4): 262-272.

Guidi L, Marotta R, Pierboni L, Ferraguti M, Todaro MA, Balsamo M. 2003. Comparative sperm ultrastructure of *Neodasys ciritus* and *Musellifer delamarei*, two species considered to be basal among chaetonotida (Gastrotricha) [J]. *Zoomorphology*, **122**: 135-143. DOI 10. 1007/s00435-003-0079-y.

Hodgson AN, Bernard RT. 1986. Ultrastructure of the sperm and spermatogenesis of three species of Mytilidae (Mollusca, Bivalvia) [J]. *Gamete Res*., **15**: 123-135.

Ke CH, Zhou SQ, Tian Y, Li FX. 2003. Ultrastructural comparison of the spermatozoa in three species of abalone [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, **25** (3): 138-142. [柯才焕, 周时强, 田越, 李复雪. 2003. 三种鲍精子超微结构的比较. 海洋学报, **25** (3): 138-142.]

Liu ZC, Shangguan BM, Xu ZZ. 1990. On the ultrastructural features of spermatogenesis of razor clam, *Sinonovacula constricata* (Lamarck) [J]. *Journal of Xiamen University* (*Natural Science*), **29** (1): 81-84. [刘正琮, 上官步敏, 许振祖. 1990. 缢蛏精子发生的超微结构研究. 厦门大学学报 (自然科学版), **29** (1): 81-84.]

Longo FJ, Domfeld EJ. 1967. The fine structure of spermatid differentiation in mussle, *Mytilus edulis* [J]. *J. Ultrastruct Res*., **20**: 462-480.

Ren SL, Wang RC, Wang DX. 1998. Ultrastructure of spermatozoon of the *Chlamys farreri* [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, **28** (3): 387-392. [任素莲, 王如才, 王德秀. 1998. 栉孔扇贝精子超微结构的研究. 青岛海洋大学学报, **28** (3): 387-392.]

Shen YP, Zhang XY. 1993. Observation on the ultrastructure of spermatogenesis and spermatozoon of pearl oyster, *Pinctada martensi* Dunker [J]. *Journal of Wuhan University* (*Natural Science*), **39** (6): 123-129. [沈亦平, 张锡元. 1993. 合浦珠母贝精子发生过程的超微结构观察. 武汉大学学报 (自然科学版), **39** (6): 123-129.]

Xu FS. 1997. Bivalve Mollusca of China Seas [M]. Beijing: Science Press. 19-33. [徐凤山. 1997. 中国海双壳类软体动物. 北京: 科学出版社. 19-33.]

Yang WX, Zhou H. 2000. Morphological variation of spermatogenic cell nucleus in *Macrobrachium nipponense* (de Haan) and its status during reproductive evolution of Caridea [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, **11** (5): 763-766. [杨万喜, 周 宏. 2000. 日本沼虾生精细胞核的形态变化及其在真虾部 Caridea 生殖进化中的地位. 应用生态学报, **11** (5): 763-766.]

Yang WX, Ying XP, Zhu JQ. 2000. Spermatogenesis of teleost and its prospective application in the study of phylogenetic development [J]. *Donghai Marine Science*, **18** (3): 53-58. [杨万喜, 应雪萍, 竺俊全. 2000. 硬骨鱼类精子发生及其在系统演化研究中的应用前景. 东海海洋, **18** (3): 53-58.]

Zhu JQ, Yang WX. 2002. Spermatogenesis of Bivalvia and its prospective application in the study of phylogenetic development [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, (4): 25-31. [竺俊全, 杨万喜. 2002. 双壳类软体动物精子发生及其在系统演化研究中的应用前景. 海洋湖沼通报, (4): 25-31.]

Zhu JQ, Yang WX, Shi GD. 2002. Ultrastructure of spermatozoon of *Tegillarca granosa* [J]. *Journal of Zhejiang University* (*Science Edition*), **29** (3): 324-328. [竺俊全, 杨万喜, 石钢德. 2002. 泥蚶精子的超微结构. 浙江大学学报 (理学版), **29** (3): 324-328.]